

**Die Östrogenausscheidung nach
Gaben von 19-Nortestosteron**

Sigrid Heldenmaier

2

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

Die Östrogenausscheidung nach Gaben von 19-Nortestosteron

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Sigrid Heldenmaier
aus Bremen

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Privat-Dozent Dr. R. KAISER
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. BICKENBACH
Dekan: Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 20.6.1961



MEINER LIEBEN MUTTER
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSANGABE

Seite

EINLEITUNG	7
A. ALLGEMEINER TEIL	7
a) Die Östrogene	7
b) Die Gestagene	9
α) Natürliche Gestagene	9
β) Synthetische Gestagene	10
B. METHODISCHER TEIL	13
a) Chemische Bestimmungsverfahren der Östrogene	13
b) Angewandtes Verfahren nach J. B. Brown zur Trennung von Östradiol, Östron und Östriol	14
C. SPEZIELLER TEIL	
Die Östrogenausscheidung nach Verabreichung von Nortestosteronverbindungen	19
a) Literaturangaben	19
b) Eigene Untersuchungen	19
D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	34
E. ZUSAMMENFASSUNG	36
LITERATURVERZEICHNIS	37

E I N L E I T U N G

Östrogene und Gestagene haben in genuiner und synthetischer Form für die gynäkologische Hormontherapie eine große Bedeutung.

Aus diesem Grunde ist die Forschung bemüht, das Verhalten dieser Stoffe im Organismus genau zu untersuchen. So kann heute durch die Entwicklung chemischer Extraktionsmethoden der Metabolismus aller Hormone, die den Östrogenhaushalt beeinflussen, mit Hilfe von Östrogenanalysen im Harn beurteilt werden.

Mit dem Verfahren von J. B. BROWN lassen sich die drei Östrogene, Östron, Östradiol und Östriol, getrennt erfassen.

Es war die Aufgabe dieser Arbeit, das Verhalten der Ausscheidung von Östron, Östradiol und Östriol nach Gaben von Nortestosteronverbindungen zu prüfen. Dabei sollte festgestellt werden, ob nach Verabreichung dieser Substanzen eine Vermehrung an Östrogenen im Organismus eintritt, ähnlich wie dies bei den Androgenen bereits verschiedentlich festgestellt wurde. Die Beantwortung dieser Frage ist auch von praktisch klinischem Interesse, da z. B. das Nortestosteron-Phenylpropionat wegen seiner stark anabolen Eigenschaften beim Mammacarcinom gegeben wird. Dasselbe gilt für die in der Gynäkologie gebräuchlichen Präparate.

Die Untersuchungen wurden an Frauen durchgeführt, die sich in der Menopause befanden bzw. deren Ovarialfunktion durch Operation oder Bestrahlung erloschen bzw. herabgesetzt war. Zur Anwendung kamen oral und parenteral applizierbare Nortestosteronverbindungen.

A. A L L G E M E I N E R T E I L

a) Die Östrogene

Die Entdeckung, Isolierung und Aufklärung der chemischen Struktur der Östrogene gelang zwischen 1923 und 1935. Besonders verdient gemacht um die Östrogenforschung haben sich in dieser Zeit: ALLEN und DOISY, ASCHHEIM und ZONDEK, DOISY (Östradiol), BUTENANDT (Östron), MARRIAN (Östriol), SCHWENK und HILDEBRANDT u. a., (36, 57).

Bei der nichtschwangeren Frau stellt das Ovarium den größten Bildner von östrogenen Hormonen dar. Diese werden aber auch in der Zona reticularis der Nebennierenrinde, in den Testes und im Harn von Männern gefunden. Hier beträgt die mittlere Tagesmenge 10 μ g Östron gegenüber 27 μ g bei gesunden zyklisch menstruierenden Frauen.

Bezüglich des Metabolismus der Östrogene stellten RYAN und ENGEL (45) fest, daß Gewebe wie Placenta, Mamma, Endometrium, Myometrium,

Hoden, Leber etc. eine Östrogenfraktion in die andere umwandeln können. Dabei kommt dem Placentagewebe die größte Aktivität bei der Umwandlung von Östradiol in Östron zu, während das Hodengewebe besondere Fähigkeit haben soll, Östron in Östradiol umzubauen.

Es wird nur ein kleiner Prozentsatz von injizierten Steroidhormonen im Harn wiedergefunden, d. h., daß die Hauptmenge auf andere Weise abgebaut werden muß. Dies geschieht vor allem in der Leber. TAYLOR (48) berichtet dazu, daß in der Leber die chemische Umwandlung der wirksamen Hormone in inaktive Substanzen erfolgt und die physiologische Ausscheidung der Östrogene durch die Galle stattfindet. Die Fähigkeit der Leber, Östrogene zu inaktivieren, wurde durch Tierversuche bewiesen (48).

Bei der Inaktivierung der Östrogenverbindungen in der Leber sind mindestens drei chemische Prozesse notwendig: Veresterung oder Bindung, Umwandlung in weniger wirksame Substanzen und wahrscheinlich tiefergehende chemische Zerstörung.

Genauere Aufschlüsse über den Stoffwechsel der Östrogene ergaben in letzter Zeit weitere Versuche mit radioaktiven Isotopen. HEUSGHIEM und VERLY (20) berichteten von einem raschen Abbau des Östron unter Aufspaltung des Fünfer-Ringes, wenn man Lebergewebe der Ratte und des Kaninchens darauf einwirken läßt. Dabei konnte erstmals eine Umsetzung von phenolischen in neutrale Steroide nachgewiesen werden. Außerdem ließen sich phenolische Steroide nachweisen, unter denen Östradiol und Östriol erkannt wurden. Die Umwandlung von Östron in Östradiol in der Leber war damit bewiesen.

Auch in der durchströmten menschlichen Placenta wurde die gegenseitige Umwandlung von Östron und Östradiol beobachtet. Man fand, daß 58 % des radioaktiven Östradiol in Östron metabolisiert wurden; 45 % ließen sich in der Durchströmungsflüssigkeit und 13 % in der Placenta selbst nachweisen. Es konnte ebenfalls eine Umwandlung von radioaktivem Östron in Östradiol beobachtet werden, hingegen fand man in keinem Falle eine Umwandlung in Östriol (32).

MUELLER und RUMNEY (35) beschrieben Versuche, die zeigten, daß Mauseleber-Mikrosomen in Anwesenheit von TPN-H⁺Östradiol primär zu 6 β -Hydroxy-Östradiol hydroxylieren, welches zu 6 β -Keto-Östradiol und 6 β -Hydroxy-Östron umgewandelt wird.

Die Östrogene werden zum Teil in freier, zum Teil in gebundener Form (z. B. an Glukuronsäure oder Schwefelsäure) ausgeschieden und erst nach Behandlung des Harnes mit Alkalien oder Säuren wieder frei und damit biologisch wirksam.

Die Hauptausscheidungsform im Harn ist die wasserlöslicher Ester, nämlich Östriolglukuronid, Östronsulfat und Östriolsulfat, letzteres allerdings nur im Schwangerenarn. Mengenmäßig ist die Ausscheidung des Östriols meistens die höchste, die des Östradiols als Glukuronsäureester die niedrigste, während die des Östrons ungefähr dazwischen liegt (23).

Während des Menstruationszyklus finden sich Schwankungen der Hormonwerte. Zur Zeit der Ovulation ist ein Gipfel in der Ausscheidung der Gesamtöstrogene zu beobachten bis zu 100% pro 24-Stundenurinmenge. Während der Schwangerschaft erfolgt eine kontinuierliche Zunahme der Follikelhormonausscheidung. Weiterhin ist eine Vermehrung nachweisbar bei persistierenden Follikeln, bei follikulären Hyperplasien, Granulosa- oder Thekazellentumoren, außerdem bei Leberschäden (hier dann vorwiegend in freier Form). Die niedrigsten Werte treten auf bei Kastration, Hypofunktion und in der Menopause.

Die Östrogene sind für das Wachstum und die Entwicklung der weiblichen Genitalien von der Kindheit bis zur Pubertät verantwortlich. Während der Geschlechtsreife erfolgt unter ihrer Wirkung der zyklische Aufbau der Uterusschleimhaut in der ersten Zyklushälfte. Diese proliferative Wirkung kommt vor allem dem im Ovarium gebildeten Östradiol zu. Zur Auslösung der Sekretionsphase ist eine Kombination der Östrogene mit Progesteron erforderlich. In der Schwangerschaft führen die östrogenen Hormone zusammen mit Progesteron zu einem Wachstum der Uterusmuskulatur und der Uterusschleimhaut sowie zu einer Lockerung des Beckengürtels.

Nach PUCK und HÜBNER (44) bewirkt Östriol selektiv eine starke Auflockerung und Proliferation an Portio und Scheide. Schon geringe Mengen können die Cervixdrüsen zu vermehrter Sekretion bringen, während die Endometriumdrüsen nicht proliferieren.

Die Messung der Östrogenaktivität erfolgt in Internationalen Einheiten (I.E.); z. B. entspricht

1 I. E. Östron = 0,0001 mg = 0,1 µ des Standardpräparates.

Außerdem gibt es die Internationale Östradiolbenzoateinheit (I.B.E.). Es entspricht

1 I.B.E. = 0,0001 mg = 0,1 µ des Östradiolbenzoatpräparates.

b) Die Gestagene

α) Natürliche Gestagene

Progesteron ist das natürliche, gestagene Hormon im Organismus. Es dient der Vorbereitung und Erhaltung der Schwangerschaft.

Seine Konstitution wurde 1933 - 1934 von BUTENANDT (1, 8) und von FERNHOLZ (1, 13) aufgeklärt.

Bereits der sprungreife Graaf'sche Follikel produziert etwa zwei Tage vor der Ovulation größere Mengen an Progesteron. Im Corpus luteum findet man die größte Progesteronbildung zwischen dem siebten und achten Tag nach der Ovulation. Schon vom zweiten Schwangerschaftsmonat ab enthält die Placenta relativ große Mengen an Progesteron, die im weiteren Verlauf der Schwangerschaft ansteigen (52).

Progesteron wird hauptsächlich in der Leber und wahrscheinlich auch in den Nieren inaktiviert. Die inaktivierten Stoffe werden durch den Harn, zum Teil aber auch durch die Galle ausgeschieden. Auf Grund von Tierversuchen ist ein entero-hepatischer Kreislauf anzunehmen (52). Von großer Bedeutung ist das Progesteron bei der Biosynthese der Sexualhormone.

Man glaubte lange Zeit, Progesteron sei das einzige natürlich vorkommende Gestagen. 1954 wurde dann in der Kaufmann'schen Klinik aus sprungreifen Follikeln, Corpora lutea und Plazenten eine weitere Substanz isoliert, die ähnliche chemische Eigenschaften wie Progesteron besaß (52, 54). Wie die Versuche zeigten, handelt es sich hier um einen Metaboliten des Progesterons (52, 55). Diese Substanz ist ein Gemisch der 20 α - und 20 β -Isomeren des Δ^4 -3-Ketopregnen-20-ol (53, 56). Das Δ^4 -3-Ketopregnen-20 β -ol ist das wirksamere dieser beiden Hormone. Es erwies sich als etwas weniger wirksam als Progesteron.

β) Synthetische Gestagene

In letzter Zeit fand man zahlreiche halbsynthetische Stoffe mit gestagener Wirkung. Es zeigte sich vor allem, daß 19-Nortestosteronderivate eine auffallend starke progestative Aktivität besitzen (11). Sie haben deshalb eine große therapeutische Bedeutung gewonnen. Auch der Mineral- und Eiweißstoffwechsel wird von ihnen beeinflusst.

Die androgene Wirkung der Norsteroidoide führt bei therapeutischen Dosen im allgemeinen kaum zu Virilisierungserscheinungen. Im Tierversuch (34) und beim Menschen (18) wurden allerdings nach Gaben von Norsteroiden in der Gravidität fetale Maskulinisierungserscheinungen beobachtet. Deshalb dürfen diese Stoffe während der Schwangerschaft nicht verabreicht werden.

Im folgenden werden drei verschiedene Präparate der Nortestosteronreihe beschrieben, die bei den vorliegenden Untersuchungen geprüft wurden:

1. 17 α -Äthinyl-19-Nortestosteron (Primolut-Schering)
2. 17 α -Äthinyl-19-Nortestosteron-Acetat (SH 420-Schering)
3. 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (Durabolin-Organon).

1. Äthinyl-Nortestosteron übertrifft selbst in oraler Form die gestagene Wirksamkeit von Progesteron i. m.

Nach einer Gesamtdosis von 150 mg kommt es zu einer guten sekretorischen Umwandlung des proliferierenden Endometrium. Eine höhere und längerdauernde Medikation führt zu einer dezidualen Umwandlung der Schleimhaut (22).

Äthinyl-Nortestosteron besitzt einen starken thermogenetischen Effekt. Schon nach etwa 5 mg pro Tag entsteht der für täglich 20 mg Progesteron typische Temperaturanstieg (16, 22).

Im Harn kommt es, im Gegensatz zum Progesteron, zu keiner erhöhten Pregnanoliassausscheidung, die 17-Ketosteroidoide bleiben ebenfalls unbeeinflusst. Da-

gegen sind Einzelfractionen der Östrogene leicht vermehrt nachweisbar (22).

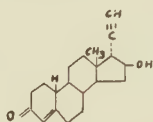
KAISER stellte fest, daß die Menstruation durch Verlängerung der Sekretionsphase bei einer täglichen Dosis von 10 - 15 mg oral zusammen mit entsprechenden Östrogengaben verschoben werden kann. Die Blutung setzte jeweils ein bis zwei Tage nach dem Absetzen der Medikation ein (22).

GREENBLATT und Mitarbeiter (17) berichteten, daß Äthinyl-Nortestosteron bei einer täglichen oralen Dosis von 20 - 30 mg eine normale Menstruation verzögern und somit eine Scheinschwangerschaft (bis zu einer Dauer von sieben Monaten und länger) erzeugen kann. Eine solche Verzögerung kann sich günstig bei Endometriosen, Menorrhagien etc. auswirken.

Durch den klinischen Menstruationsverschiebungstest bei der Frau wurde inzwischen gesichert, daß Äthinyl-Nortestosteron (dasselbe gilt für Äthinyl-Nortestosteron-Acetat), im Gegensatz zu Progesteron, zur Verlängerung einer Sekretionsphase nicht unbedingt mit Östrogenen kombiniert werden muß (24, 26).

Auch bei funktionellen Blutungen verbessert eine Kombination mit Östrogenen den Effekt der Nortestosteronverbindungen nicht so eindeutig wie beim Progesteron (38). Deshalb werden östrogene Begleitwirkungen angenommen, zumal auch am Endometrium der Frau proliferative Effekte nachweisbar sein sollen (19).

Äthinyl-Nortestosteron findet vor allem Anwendung bei der Behandlung funktioneller Blutungen. Innerhalb weniger Tage kommen die Blutungen bei einer täglichen oralen Dosis von 15 - 20 mg zum Stehen. In therapeutischer Dosis führt das Präparat nicht zu Nebenerscheinungen (42).

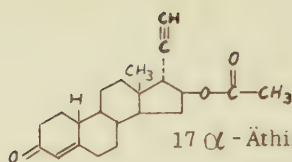


17 α - Äthinyl - 19 - Nortestosteron

2. Äthinyl-Nortestosteron-Acetat ist das zur Zeit stärkste Gestagen. Es wurde bei der Frau im Grundversuch nach KAUFMANN getestet. POTS (43) berichtete, daß mit Gesamtdosen von 5 mg innerhalb von 10 Tagen eine unvollständige Transformation des Endometrium zustandekommt, während sich die Schleimhaut nach Gesamtdosen von 10 - 20 mg in normaler Sekretionsphase befand. Es wurde damit eine 10fach stärkere Wirkung gegenüber Äthinyl-Nortestosteron beobachtet.

Schon bei der niedrigsten Dosis von 1 mg täglich trat der starke thermogenetische Effekt hervor.

Äthinyl-Nortestosteron-Acetat findet ebenfalls Anwendung bei der Behandlung funktioneller Uterusblutungen.



17 α - Äthynyl-19-Nortestosteron-Acetat

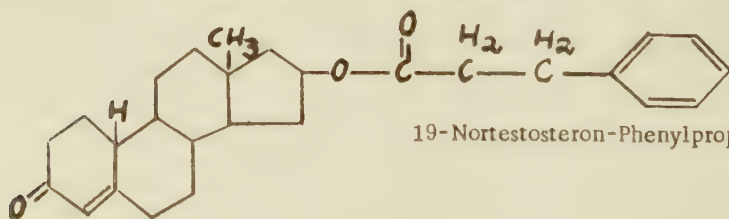
3. Beim Nortestosteron-Phenylpropionat, einem veresterten Norsteroid, wurden vor allem starke anabole Eigenschaften beobachtet, welche die virilisierenden weit übertreffen. Es beeinflußt nicht nur die Eiweißbilanz, sondern auch die Kalziumbilanz in positivem Sinne. Eine günstige therapeutische Wirkung übt es vor allem auch bei den endokrinen Osteoporosen aus (39).

Tierexperimentell führt die Substanz zu einer Vergrößerung des Uterus, die allerdings bisher nur mit der gestagenen Wirkung derselben erklärt wurde (40, 41).

Eine Behandlung mit Nortestosteron-Phenylpropionat wird empfohlen beim inoperablen Mammacarcinom und dem Vorliegen von Knochenmetastasen (15, 49). Hierbei sind nach van der WERFF (49) besonders die eiweißsparende und hemmende Wirkung auf den Entkalkungsprozeß bei Knochenmetastasen von Bedeutung. Es zeigte sich bei fast allen Patientinnen eine bedeutende Besserung des Allgemeinbefindens. Die durch die Skelettmetastasen verursachten Schmerzen konnten teilweise zum Verschwinden gebracht werden.

Van der WERFF (50) empfiehlt zusätzlich zur chirurgischen Behandlung oder zur Strahlentherapie beim Mammacarcinom eine gleichzeitige Verabreichung von Nortestosteron-Phenylpropionat, was von NOWAKOWSKI und PARADA befürwortet wird (39).

Das Medikament findet auch in der Inneren Medizin Anwendung, z. B. bei abnormer Magerkeit, bei Kachexie und bei Schwächezuständen.



19-Nortestosteron-Phenylpropionat

B. METHODISCHER TEIL

a) Chemische Bestimmungsverfahren der Östrogene

Wir besitzen heute, anstelle der früher verwandten biologischen Verfahren (ALLEN-DOISY u. a.), chemische Bestimmungsmethoden, die schon den Nachweis ganz geringer Mengen östrogenen Hormone ermöglichen. Dadurch spielen die biologischen Verfahren kaum noch eine Rolle.

Erst durch die neuen, verbesserten Fraktionierungsmethoden nach BACHMANN und PETTIT (2) wurde eine Trennung in Östriol und in ein Gemisch aus Östradiol und Östron möglich. Östradiol und Östron ließen sich sehr schnell mit Benzol oder Äther aus dem Harn extrahieren, während Östriol in wässrigem Milieu besser löslich war.

JAILER (21) modifizierte dieses Verfahren für den klinischen Gebrauch. KELLER (29) beschrieb 1953 eine verfeinerte Extraktionsmethode, während es BROWN (6) schließlich gelang, die drei Östrogene exakt getrennt zu extrahieren.

Die Messung der gewonnenen Hormone stellt eine schwierige Aufgabe dar, denn bisher konnten alle Verunreinigungen, die sich störend auf die Colorimetrie auswirken, noch nicht beseitigt werden.

KOBER (30) gelang es 1931, ein Verfahren auszuarbeiten, welches eine Farbreaktion der Östrogene ergab. Dabei wurde ein Gemisch von Extrakt und Schwefelsäure erwärmt und mit Wasser verdünnt. Es bestand dadurch eine rotgefärbte Lösung mit grüner Fluoreszenz. 1938 veröffentlichte KOBER eine Verbesserung seiner Methode mittels Naphtolschwefelsäure, die ebenfalls eine rote Farbreaktion mit allen drei Östrogenen zeigte.

Die Ultraviolett-Spektrophotometrie, die 1948 erstmalig angewandt wurde, brachte weitere Fortschritte. Ihre Entwicklung verdanken wir FRIEDGOOD, GARST und HAAGEN-SMIT (14). Diese Methode beruht auf der Messung der optischen Dichte der zu untersuchenden Lösungen im BECKMAN-Quarzspektrophotometer. Für die Farbreaktion wurde eine konstante 70%ige Schwefelsäure benutzt.

BREITNER und EICHSTÄDTER (5) modifizierten dieses Verfahren, indem sie die durch spektrophotometrische Messung gewonnenen Extinktionskurven nach der ALLEN'schen Formel:

$$\text{Faktor } F = E_x - \frac{E_a + E_b}{2}$$

rechnerisch auswerteten. Faktor F bedeutet den gesuchten Extinktionswert der zu messenden Substanz. E_x ist die Extinktion bei der Wellenlänge x . E_a und E_b stellen die Extinktionen bei den Wellenlängen a und b dar (wobei der Abstand zwischen a_x und b_x gleich sein muß, die Wellenlänge a und b im übrigen aber beliebig gewählt werden kann).

b) Angewandtes Verfahren nach J. B. BROWN zur Trennung von Östradiol, Östron und Östriol

Die eigenen Versuche wurden nach der von J. B. BROWN angegebenen Methode durchgeführt. Sie entstand in Anlehnung an die von CLAYTON (9) beschriebene und hat ihren Vorteil darin, daß sie eine getrennte Bestimmung von Östradiol, Östron und Östriol, auch in geringen Mengen, ermöglicht.

BROWN schaltet dabei einen Arbeitsgang ein, mit dem er durch Methylierung der Phenolfraktion den Reinigungsvorgang verbessert. Die Trennung der methylierten Östrogene erfolgt dann mittels der Säulen-Chromatographie, die mit Aluminiumoxyd hergestellt sind. Sie werden nun colorimetrisch mit einer verbesserten Kober-Farbreaktion bestimmt, wobei störender Untergrund durch die spektrophotometrische Methode nach ALLEN beseitigt wird.

Bei den Versuchen wurden grundsätzlich die in der Originalarbeitsvorschrift angegebenen Bedingungen eingehalten.

Arbeitsvorschrift und Erklärung der verschiedenen Arbeitsgänge

1. Hydrolyse und Extraktion.

- a) 200 ccm einer 24-Stunden-Urinmenge werden unter dem Rückflußkühler zum Kochen gebracht, dann mit 30 ccm konzentrierter Salzsäure (11-n) versetzt und 60 Minuten lang weitergekocht. Im Anschluß daran kühlt man schnell ab.
- b) Man extrahiert den abgekühlten, hydrolisierten Urin zunächst mit 1 x 200 ccm und anschließend 2 x 100 ccm Äther nach dem 3-Scheidetrichtersystem. Die saure Fraktion wird durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung (80 ccm) von pH 10,5 entfernt, der Ätherextrakt mit 20 ccm NaOH (8%ig) kräftig durchgeschüttelt und die NaOH-Phase, die ebenfalls einige Östrogene enthält, mit 80 ccm 8%iger, gesättigter NaHCO_3 -Lösung teilweise neutralisiert, so daß die Karbonationenkonzentration zunimmt. Dann wird sie noch einmal mit dem Ätherextrakt ausgeschüttelt. Die Östrogene gelangen auf diese Weise in den Äther zurück, während die störenden Substanzen in der wässrigen Schicht bleiben, die verworfen wird. Jetzt wäscht man den Äther mit 20 ccm 8%iger, gesättigter NaHCO_3 -Lösung, um ein etwa noch alkalisches Milieu zu neutralisieren.

2. Extraktion der Phenolfraktion und Methylierung.

- a) Der Ätherextrakt wird in einem 500-ccm-Kolben bis zum Trocknen verdampft. Den Rückstand lost man sofort in 1 ccm Äthanol, um Östriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen und kühlt den Kolben ab. Sein Inhalt wird mit 25 ccm Benzol in einen Scheidetrichter gebracht,

der bereits 25 ccm Leichtpetroleum enthält. Man extrahiert die Östrogene aus diesem Benzol-Leichtpetroleumgemisch mit:

1. 2 x 25 ccm aqua dest.
2. 2 x 25 ccm 1,6%iger NaOH.

In dem Wasserextrakt ist das gesamte Östriol enthalten und kommt in einen verschlossenen

100-ccm-Kolben mit 0,9 g H_3BO_3 + 4 ccm 20%iger NaOH.

Der NaOH-Extrakt, in dem das Östron und das Östradiol enthalten sind, kommt ebenfalls in einen

100-ccm-Kolben mit nur 0,9 g H_3BO_3 .

- b) Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt. Danach fügt man den Gemischen je 1 ccm Dimethylsulfat bei, schüttelt kräftig durch und stellt sie erneut für 10 bis 30 Minuten ins Wasserbad. Nach nochmaliger Zugabe von 1 ccm Dimethylsulfat, welches das erste, bereits neutralisierte ersetzt, wird der Vorgang wiederholt. Danach ist die Methylierung beendet.

3. Entfernung der störenden Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Östrogene.

- a) Jedem Kolben werden zugefügt:

10 ccm 20%iger NaOH
2,5 ccm 30%iges H_2O_2 .

- b) Die methylierte Östriolfraction wird mit

25 ccm Benzol,

die methylierte Östron-/Östradiolfraction mit

25 ccm Leichtpetroleum

in Scheidetrichtern extrahiert.

Die Benzol-Leichtpetroleumextrakte werden mit

2 x 5 ccm aqua dest.

gewaschen. Das Wasser soll möglichst vollständig abgelassen werden.

4. Chromatographie.

Sie führt zu einer Aufteilung in die drei Östrogene:

1. Östriol
2. Östron
3. Östradiol.

Neben dieser Trennung führt die Chromatographie zu einer Beseitigung weiterer Urochrome, die noch im Rohextrakt vorhanden waren.

Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren verwendet, die mit Aluminiumoxyd gefüllt werden.

Eine Säule wird folgendermaßen aufgebaut:

Man legt zunächst eine kleine Watteschicht unten in die Chromatographieröhre, darauf kommen 2 g Aluminiumoxyd, die vorher mit 3 Tropfen aqua dest. inaktiviert werden. Das Aluminiumoxyd wird mit einer 1 cm hohen Schicht von in Eisessig und Äthanol gewaschenem Sand bedeckt, die zum Schutze der Säule bei der Zugabe von Lösungsmitteln dient. Das methylierte, in Benzol gelöste Östriol läßt man nun die mit Benzol präparierte Aluminiumoxydsäule durchlaufen. Danach wird die Säule gewaschen mit:

1. 12 ccm eines Gemisches von 1,4 % Äthanol in Benzol. Die durchgelaufene Flüssigkeit entfernt Urinfarbstoffe und wird verworfen.
2. 15 ccm eines Gemisches von 2,5 % Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Östriolmethyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Östron-/Östradiolfraction im Leichtpetroleum wird durch eine zweite mit Leichtpetroleum präparierte Aluminiumoxydsäule gegossen und diese Säule gereinigt mit:

1. 12 ccm eines Gemisches von 12 % Benzol in Leichtpetroleum, das anschließend verworfen wird.
2. 15 ccm eines Gemisches von 40 % Benzol in Leichtpetroleum,
3. weiteren 12 ccm desselben Gemisches.

Diese Lösung mit dem gesamten Östronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.

4. 12 ccm Benzol.

Damit löst man den gesamten Östradiolmethyläther heraus.

5. Verdampfung des Lösungsmittels.

Zu den drei Östrogenlösungen fügt man Hydrochinon (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ccm von 2 % w/v) und ein kleines Stück porösen Tons hinzu. Die Lösungs-

mittel werden abdestilliert und der Rückstand am Vakuum getrocknet. Drei Stehkolben, die nur Phenol enthalten, werden in gleicher Weise präpariert und dienen bei der Messung als Vergleichslösung.

6. Die Messung der gewonnenen Östrogene mit Hilfe der Spektrophotometrie.

a) Färbung:

Man gibt zunächst in die Stehkolben, in denen sich die einzelnen Östrogene als Trockenrückstand befinden, ein Hydrochinon- H_2SO_4 -Reagenz, und zwar für jedes der drei Östrogene ein bestimmtes:

Zum Östriol gibt man 3 ccm einer 76%igen Hydrochinon- H_2SO_4 -Lösung, zum Östron 3 ccm einer 66%igen Hydrochinon- H_2SO_4 -Lösung und zum Östradiol 3 ccm einer 60%igen Hydrochinon- H_2SO_4 -Lösung.

Auf dieselbe Weise wird mit den Vergleichsreagenzien verfahren.

Die so entstandenen Lösungen erhitzt man 20 Minuten lang im kochenden Wasserbad. Nach der raschen Abkühlung wird:

dem Östriolgefäß 1 ccm,

dem Östrongefäß 0,5 ccm und

dem Östradiolgefäß 0,2 ccm aqua dest.

zugefügt. Dasselbe gilt für die Vergleichsreagenzien.

Die Gefäße werden für weitere 10 Minuten ins kochende Wasserbad gestellt und im Anschluß daran sofort abgekühlt, damit der Färbevorgang nicht weiterläuft.

b) Messung:

Diese erfolgt mittels des Beckman-Quarz-Spektralphotometers, Modell DU. Die Hormon- und Vergleichslösungen werden in Cuvetten von 1 x 1 x 4 cm Inhalt gefüllt und in die Meßkassette des Beckman-Apparates eingeschoben. Zunächst wird der Strahlengang durch die Vergleichslösung gelenkt und die Extinktion zum Nullwert justiert. Daraufhin setzt man die dunklere Hormonlösung dem Strahlengang mit der Wellenlänge 480 $\text{m}\mu$ aus. Der jetzt erscheinende Wert wird aufgeschrieben, da er die Differenz der Extinktion zum Testreagenz darstellt. Die anschließenden Messungen nimmt man in gleicher Weise vor.

Die Östriol- und Östronfraktion werden bei folgenden Wellenlängen gemessen:

480 $\text{m}\mu$	516 $\text{m}\mu$	552 $\text{m}\mu$
-------------------	-------------------	-------------------

die Östradiolfraktion bei:

480 $\text{m}\mu$	518 $\text{m}\mu$	556 $\text{m}\mu$.
-------------------	-------------------	---------------------

c) **Auswertung der Extinktionswerte:**

Durch storende im Harn enthaltene Substanzen, die während des Verfahrens nicht zu beseitigen sind, wird die Färbung beeinflußt und unter Umständen damit auch die optische Dichte verändert. Um das auszuschließen wird eine Korrektur vorgenommen, die man mit Hilfe der ALLEN'sche Formel durchführt.

Sie lautet für Östriol und Östron:

$$2 D_{516} - (D_{480} + D_{552})$$

für Östradiol:

$$2 D_{518} - (D_{480} + D_{556})$$

D = optische Dichte

Die Extinktion wird also errechnet, indem man die Werte, die bei den verschiedenen Wellenlangen abgelesen wurden, in die entsprechende Formel einsetzt. Die Menge an Östrogenmethylethern in $\bar{x}$ bekommt man, wenn man die errechneten Extinktionswerte in eine Standardkurve einträgt. Zum Schluß werden die abgelesenen Werte auf die 24-Stunden-Urinmenge umgerechnet.

Wiedergewinnungsversuche.

Wiedergewinnungsversuche zeigten die Arbeitsverluste, die durch den Analysengang entstanden waren. Zunächst wurde die Östrogenmenge eines hormonarmen Urins nach dem BROWN'schen Verfahren bestimmt. In einer zweiten Probe gab man demselben Urin nach der Hydrolyse eine bekannte Menge Reinhormonlösung zu. Danach wurden im Parallelversuch wieder die Östrogene bestimmt.

Aus der Differenz der beiden Ergebnisse ergaben sich für die einzelnen Fraktionen folgende Arbeitsverluste:

Östriol 18 %

Östron 10 %

Östradiol 25 %

Diese Zahlen sind Durchschnittswerte, die aus zwei getrennten Wiedergewinnungsversuchen ermittelt wurden.

C. SPEZIELLER TEIL

DIE ÖSTROGENAUSSCHIEDUNG NACH VERABREICHUNG VON NORTESTOSTERONVERBINDUNGEN

a) Literaturangaben

In der Literatur finden sich bereits verschiedene Einzelangaben über den Einfluß von Nortestosteronverbindungen auf die Östrogenausscheidung im Organismus.

KAISER (22) teilte mit, daß nach Verabreichung von Äthinyl-, Methyl- und Äthyl-Nortestosteron die T-Fraktion nach KELLER im Harn vermehrt auftritt, was auch STAEMMLER und LAURITZEN (47) erwähnen. Sie berichteten über eine gelegentliche Zunahme der Östriolfraktion nach Äthinyl-Nortestosteron.

BREUER und Mitarbeiter (4) fanden Äthinyl-17 β -Östradiol und Östron im Urin in drei Fällen nach Verabreichung von Äthinyl-Nortestosteron-Acetat. Sie bewiesen, daß mit dem BROWN'schen Verfahren nach Applikation dieser Substanz tatsächlich Östrogene erfaßt werden.

Interessant ist, daß bei der Frau auch eine Zunahme an Östrogenen im Harn nach Testosteron festgestellt wurde, und zwar zuerst biologisch (12).

Chemisch erhielten BAYER und Mitarbeiter mit dem Verfahren von BROWN ebenfalls eine Zunahme der Östronfraktion nach Injektion von Testosteron-estern (3). WEST und Mitarbeiter (51) fanden im Anschluß an Testosteronpropionatgaben Östron und Östradiol-17 β im Urin von zwei kastrierten, adrenaletomierten Frauen mit metastasierendem Mammacarcinom. Außerdem wurden noch verschiedene andere unbekannte Phenole mit einer ähnlichen Löslichkeit nachgewiesen.

Somit gibt es bereits Anhaltspunkte dafür, daß beide Steroidgruppen zu einer Änderung im Östrogenstoffwechsel führen können.

b) Eigene Untersuchungen

Die Untersuchungen verteilten sich auf insgesamt elf Frauen in der Menopause. Es wurden drei verschiedene Präparate geprüft: Äthinyl-Nortestosteron, Äthinyl-Nortestosteron-Acetat und 19-Nortestosteron-Phenylpropionat.

I. Äthinyl-Nortestosteron.

Drei Frauen erhielten je 50 mg Äthinyl-Nortestosteron an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in oraler Form verabreicht.

Frau Sch.

58 Jahre, Menopause mit 42 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	29.7.59	730 ccm	1	6	9
2	30.7.	700 ccm	4	Ø	2
	am 30.7. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron (oral)				
3	31.7.	810 ccm	1	3	Ø
	am 31.7. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron				
4	1. 8.	800 ccm	2	Ø	1
5	2. 8.	700 ccm	1	3	Ø
6	4. 8.	880 ccm	Ø	Ø	8
7	5. 8.	610 ccm	4	Ø	Ø

TABELLE I

Bei Frau Sch. war bei keiner der drei Östrogenfraktionen eine Änderung gegenüber den Ausgangswerten zu beobachten.

Frau R.

60 Jahre, Menopause mit 49 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	27.8.59	450 ccm	2	1	3
2	28.8.	400 ccm	1	1	2
	am 28.8. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron (oral)				
3	29.8.	700 ccm	1	13	1
	am 29.8. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron				
4	30.8.	900 ccm	25	5	Ø
5	31.8.	850 ccm	8	4	4
6	1.9.	1260 ccm	3	4	4
7	2.9.	1260 ccm	24	Ø	7

TABELLE II

Bei Frau R. stieg die Östradiolausscheidung am Tag nach der zweiten Verabreichung des Präparates auf 25 μ , gegenüber Ausgangswerten von 2 bzw. 1 μ , an.

An den folgenden zwei Tagen sank sie bis nahe an die Ausgangswerte ab, um am vierten Tag nach der Medikation noch einmal auf 24 μ anzusteigen. Das Östron zeigte sofort nach der Applikation eine Zunahme bis 13 μ , gegenüber einem Ausgangswert von 1 μ , um in den folgenden Tagen langsam bis zum Nullwert abzusinken. Beim Östriol ließ sich erst am fünften Tag nach der Applikation eine Erhöhung der Ausscheidung feststellen; es erfolgte ein ganz geringer Anstieg auf 7 μ ; die Ausgangswerte betrug 2 bzw. 3 μ .

Frau M.

50 Jahre, Zustand nach Uterus- und Adnexexstirpation 1958.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	28.8.59	1430 ccm	Ø	1	12
2	29.8.	880 ccm	1	2	3
	am 29.8. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron (oral)				
3	30.8.	1170 ccm	35	8	5
	am 30.8. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron				
4	31.8.	1180 ccm	66	Ø	5
5	1.9.	1240 ccm	6	1	2
6	2.9.	1330 ccm	2	2	4
7.	3.9.	1420 ccm	1	Ø	4

TABELLE III

Bei Frau M. stieg die Östradiolausscheidung mit 35 μ am Tag nach der ersten Verabreichung des Medikaments stark an; sie erreichte am folgenden Tag mit 66 μ ihr Maximum und sank in den nächsten drei Tagen auf den Ausgangswert von 1 μ ab. Das Östron zeigte mit 8 μ nur eine leichte Erhöhung und ging sofort wieder auf den Ausgangswert von 1 bzw. 2 μ zurück. Die Östriolausscheidung blieb auf dem Niveau der Ausgangswerte.

II. Äthinyl-Nortestosteron-Acetat.

Zwei Frauen erhielten Äthinyl-Nortestosteron-Acetat in einer Dosis von je 50 mg oral an zwei aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht.

Frau R.

51 Jahre, letzte Periode vor 6 Monaten. Supravaginale Uterusamputation wegen Uterus myomatosus.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol γ	Östron γ	Östriol γ
1	15.4.59	1600 ccm	13	47	27
2	16.4.	1320 ccm	1	19	30
	am 16.4.	50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)			
3	17.4.	1180 ccm	24	42	1
	am 17.4.	nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat			
4	18.4.	1300 ccm	13	41	21
5	19.4.	1200 ccm	Ø	22	15
6	20.4.	1050 ccm	Ø	9	105
7	21.4.	1700 ccm	Ø	19	5
8	22.4.	800 ccm	Ø	Ø	99

TABELLE IV

Bei Frau R. waren in allen drei Fraktionen relativ hohe Ausgangswerte, hauptsächlich beim Östron und Östriol, zu beobachten. Die Ausscheidung des Östradiols betrug am Tag nach der ersten Medikation 24 γ , gegenüber dem höchsten Ausgangswert von 13 γ . Am folgenden Tag sank die Ausscheidung auf den Ausgangswert ab und war an weiteren vier Tagen negativ. Beim Östron erfolgte keine Veränderung, während beim Östriol zunächst ein Absinken zu beobachten war, dem am dritten Tag nach der zweiten Applikation eine starke Erhöhung auf 105 γ folgte. Am nächsten Tag war die Ausscheidung auf 5 γ reduziert, um dann noch einmal auf 99 γ anzusteigen.

Frau H.

47 Jahre, letzte Periode vor 7 Monaten. Zustand nach supravaginaler Uterusamputation wegen Uterus myomatosus.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	15.8.59	920 ccm	Ø	Ø	Ø
2	16.8.	620 ccm	1	1	4
	am 16.8. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)				
3	17.8.	930 ccm	5	13	4
	am 17.8. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat				
4	18.8.	1020 ccm	12	1	Ø
5	19.8.	750 ccm	3	2	2
6	20.8.	650 ccm	Ø	3	1
7	21.8.	810 ccm	Ø	9	10

TABELLE V

Die Östradiolausscheidung zeigte bei Frau H. einen geringen Anstieg von 1 auf 5 μ am Tag nach der ersten, und auf 12 μ nach der zweiten Applikation. Am übernächsten Tag sank es dann auf den Nullwert ab. Das Östron wurde sofort nach der Einnahme der Substanz mit 13 μ , gegenüber dem Ausgangswert von 1 μ , und am vierten Tag mit 9 μ vermehrt gefunden. Das Östriol stieg am vierten Tag nach der zweiten Applikation auf 10 μ an, der Ausgangswert betrug 4 μ .

III. 19-Nortestosteron-Phenylpropionat.

Sechs Frauen bekamen einmalig 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i. m. injiziert, nachdem an zwei Tagen zuvor die Ausgangswerte bestimmt worden waren.

Frau Ma.

64 Jahre, Menopause mit 43 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol γ	Östron γ	Östriol γ
1	15.10.59	800 ccm	Ø	5	4
2	16.10.	1000 ccm	Ø	Ø	7
	am 16.10.	100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)			
3	17.10.	730 ccm	23	9	1
4	18.10.	550 ccm	Ø	18	Ø
5	19.10.	460 ccm	Ø	11	Ø
6	20.10.	500 ccm	1	4	Ø

TABELLE VI

Bei Frau Ma. war die Östradiolausscheidung vor der Injektion negativ; sie stieg am Tag danach auf 23 γ an und sank dann sofort wieder auf den Nullwert ab. Das Östron zeigte nach der Injektion eine geringe Erhöhung der Ausscheidung, die am folgenden Tag mit 18 γ ihr Maximum erreichte und am übernächsten Tag auf den Ausgangswert von 5 γ absank. Beim Östriol trat eine Depression ein, die während der ganzen Beobachtungszeit bestand.

Frau Schu.

59 Jahre, Menopause mit 47 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol γ	Östron γ	Östriol γ
1	29.10.59	1080 ccm	Ø	3	Ø
2	30.10.	1520 ccm	Ø	Ø	7
	am 30.10.	100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)			
3	31.10.	1100 ccm	6	68	2
4	1.11.	1160 ccm	9	123	Ø
5	2.11.	760 ccm	1	5	Ø
6	3.11.	1400 ccm	6	50	19
7	4.11.	1140 ccm	4	30	3

TABELLE VII

Bei Frau Schu. stieg das Östradiol nach zwei negativen Ausgangswerten auf 6 μ an, am folgenden Tag betrug es 9 μ , es blieb nach einem Absinken auf 1 μ an den nächsten zwei Tagen noch leicht erhöht. Das Östron ließ sofort nach der Injektion einen starken Anstieg auf 68 μ erkennen, der am folgenden Tag mit 123 μ sein Maximum erreichte. Einen Tag später betrug die Ausscheidung nur noch 5 μ , während an den zwei nächsten Tagen wiederum eine deutliche Erhöhung vorhanden war. Beim Östriol ließ sich am vierten Tag nach der Injektion ein geringer Anstieg feststellen.

Frau H.

57 Jahre, vor 2 Jahren Röntgenmenolipsierung.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	21.10.59	2020 ccm	1	1	6
2	22.10.	1680 ccm	Ø	Ø	10
	am 22.10.	100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)			
3	23.10.	1900 ccm	1	26	14
4	24.10.	1960 ccm	11	46	2
5	25.10.	1420 ccm	4	29	6
6	26.10.	1300 ccm	1	31	3
7	27.10.	1800 ccm	Ø	20	1

TABELLE VIII

Die Östradiolausscheidung stieg bei Frau H. am zweiten Tag nach der Injektion von 1 μ auf 11 μ an und sank in den folgenden Tagen wieder zum Ausgangswert ab. Beim Östron ließ sich sofort eine Erhöhung der Ausscheidung feststellen; und zwar betrug sie am ersten Tag 26 μ , am zweiten Tag 46 μ und blieb auch an den folgenden Tagen deutlich erhöht. Die Östriolausscheidung blieb bis auf eine ganz geringe Erhöhung nach der Injektion und einer leichten Depression an den folgenden Tagen im Bereich der Ausgangswerte.

Frau D.

66 Jahre, Menopause mit 53 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol γ	Östron γ	Östriol γ
1	10.11.59	900 ccm	Ø	2	5
2	11.11.	1060 ccm	Ø	Ø	4
	am 11.11. 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)				
3	12.11.	1560 ccm	2	17	9
4	13.11.	1020 ccm	21	92	Ø
5	14.11.	1200 ccm	4	66	3
6	15.11.	990 ccm	Ø	51	Ø
7	16.11.	1420 ccm	3	37	3

TABELLE IX

Bei Frau D. waren die beiden Östradiolausgangswerte negativ. Am zweiten Tag nach der Injektion wurde ein deutlicher einmaliger Anstieg der Ausscheidung auf 21 γ beobachtet. Das Östron zeigte ein noch deutlicheres Ansteigen der Werte, am ersten Tag betrugen sie 17 γ und am zweiten Tag 92 γ ; sie hielten sich auch an drei weiteren Tagen noch stark erhöht. Das Östriol zeigte keine Veränderung der Ausscheidung.

Frau Schm.

82 Jahre, Menopause mit 50 Jahren. Rezidivierende Blutung, Abrasio, Radiumeinlage.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol γ	Östron γ	Östriol γ
1	4.12.59	640 ccm	Ø	5	5
2	5.12.	840 ccm	Ø	10	9
	am 5.12. 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)				
3	6.12.	485 ccm	Ø	83	Ø
4	7.12.	500 ccm	Ø	28	5
5	8.12.	700 ccm	Ø	28	3
6	9.12.	900 ccm	Ø	26	Ø
7	10.12.	570 ccm	Ø	20	Ø
8	11.12.	400 ccm	Ø	14	3

TABELLE X

Bei Frau Schm. waren die Östradiolwerte sowohl vor als auch nach der Hormonzufuhr negativ. Östron stieg von einem Ausgangswert von 10 μ nach der Injektion sofort maximal auf 83 μ an; danach fielen die Werte ab, blieben aber gegenüber der Ausgangsausscheidung noch weitere fünf Tage deutlich erhöht. Die Fraktion des Östriols zeigte eher eine leichte Depression, die während der gesamten Versuchsserie anhielt.

Frau H.

64 Jahre, Menopause mit 57 Jahren.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Östradiol μ	Östron μ	Östriol μ
1	11.12.59	1200 ccm	3	18	7
2	12.12.	720 ccm	1	12	Ø
	am 12.12.	100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat (i. m.)			
3	13.12.	1340 ccm	18	36	5
4	14.12.	1200 ccm	11	72	Ø
5	15.12.	1100 ccm	3	58	4
6	16.12.	1190 ccm	9	52	3
7	17.12.	1080 ccm	Ø	36	7

TABELLE XI

Die Östradiolausscheidung blieb bei Frau H., mit Ausnahme des ersten Tages nach der Injektion, an dem sich eine geringe Erhöhung zeigte, auf dem Niveau der Ausgangswerte. Beim Östron stieg die Ausscheidung nach der Injektion fünf Tage deutlich an. Der Maximalwert betrug 72 μ , zwei Tage post injectionem, gegenüber Ausgangswerten von 12 μ und 18 μ . An den drei nächsten Tagen blieben die Werte immer noch deutlich erhöht. Beim Östriol war kein Ansteigen zu beobachten.

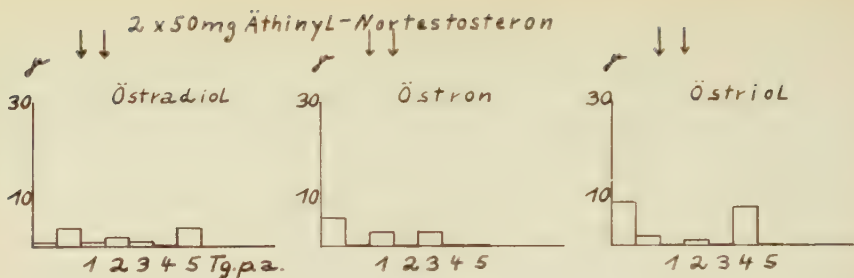


Abb. I, Frau Sch., 58 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach oraler Verabreichung von 100mg ÄthinyL-Nortestosteron

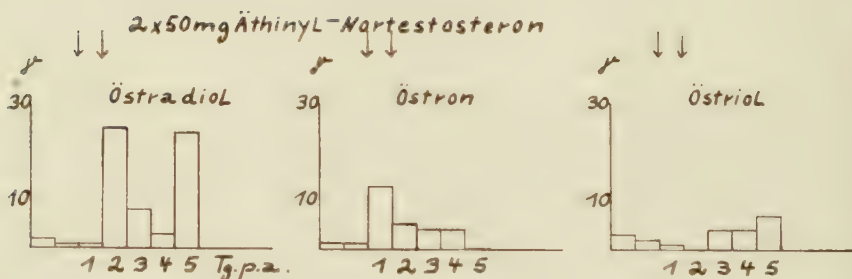


Abb. II, Frau R., 60 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach oraler Verabreichung von 100mg ÄthinyL-Nortestosteron

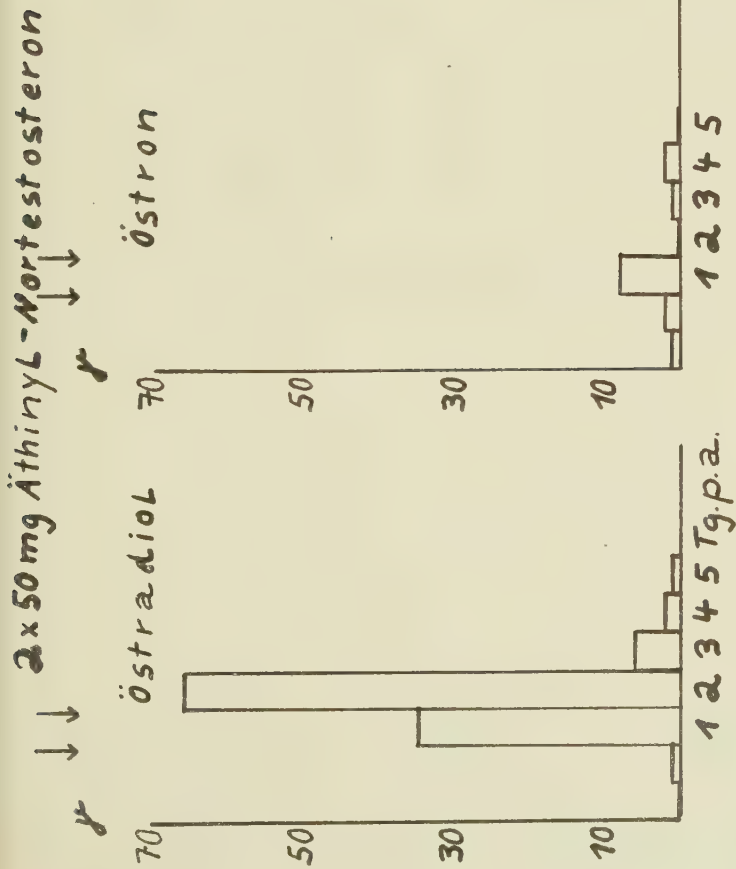


Abb. III, Frau M. 50 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach oraler Verabreichung von 100 mg Äthinyl-Nortestosteron

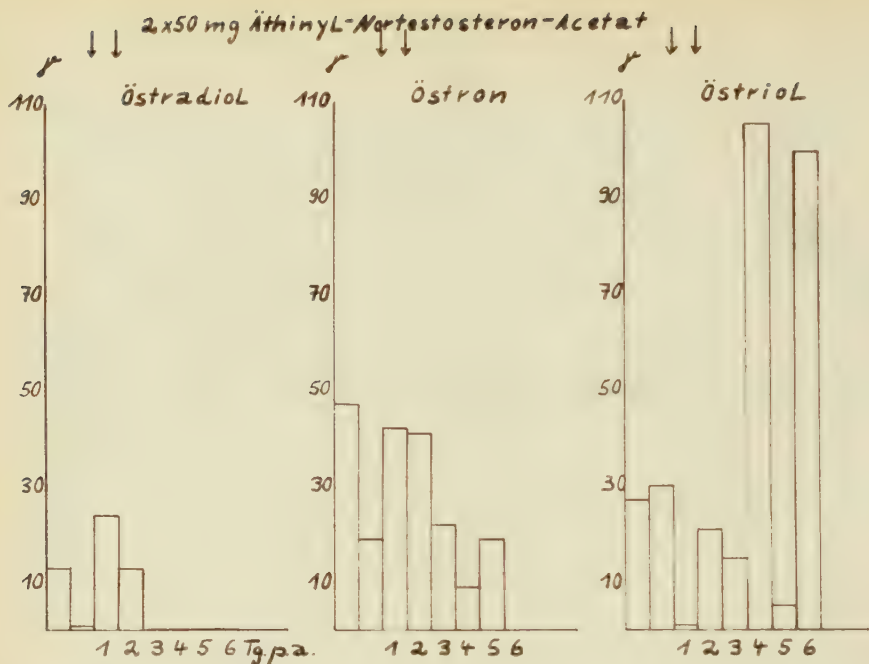


Abb. IV, Frau R., 51 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach oraler Verabreichung von 100mg ÄthinyL-Nortestosteron-Acetat

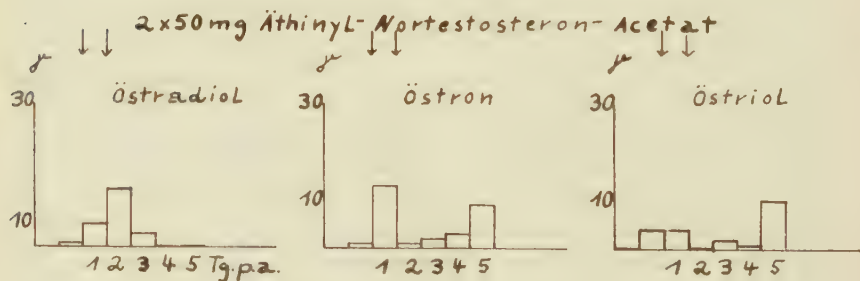


Abb. V, Frau H., 47 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach oraler Verabreichung von 100mg ÄthinyL-Nortestosteron-Acetat

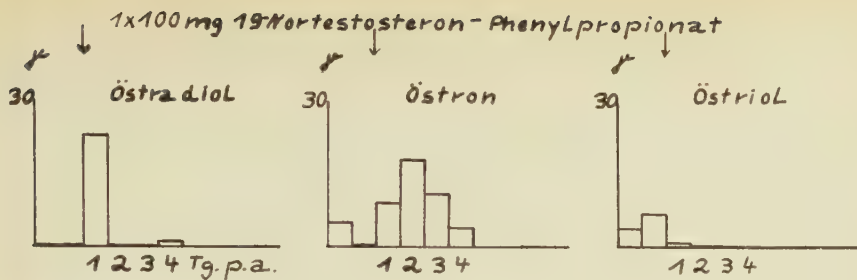


Abb. II, Frau Ma., 64 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat l.m.

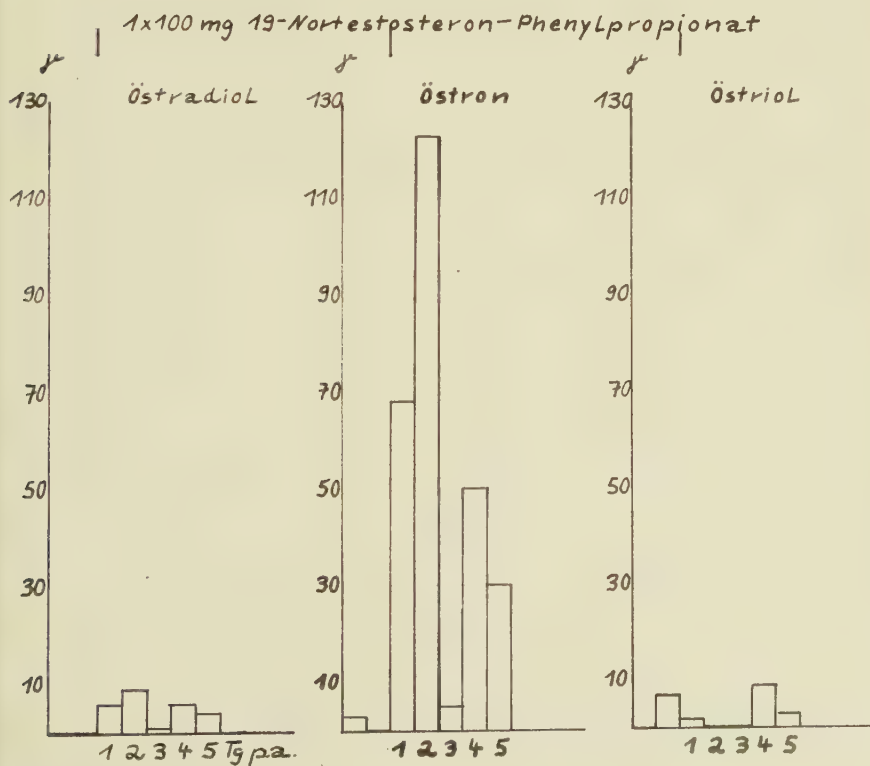


Abb. III, Frau Schu., 59 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i.m.

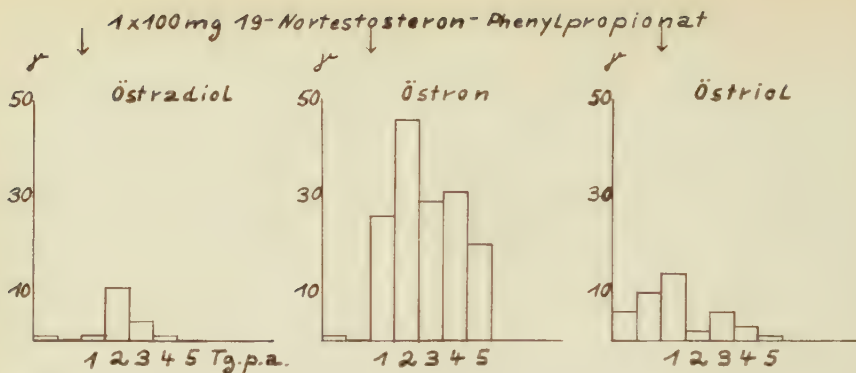


Abb. VIII, Frau H., 57 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i.m.

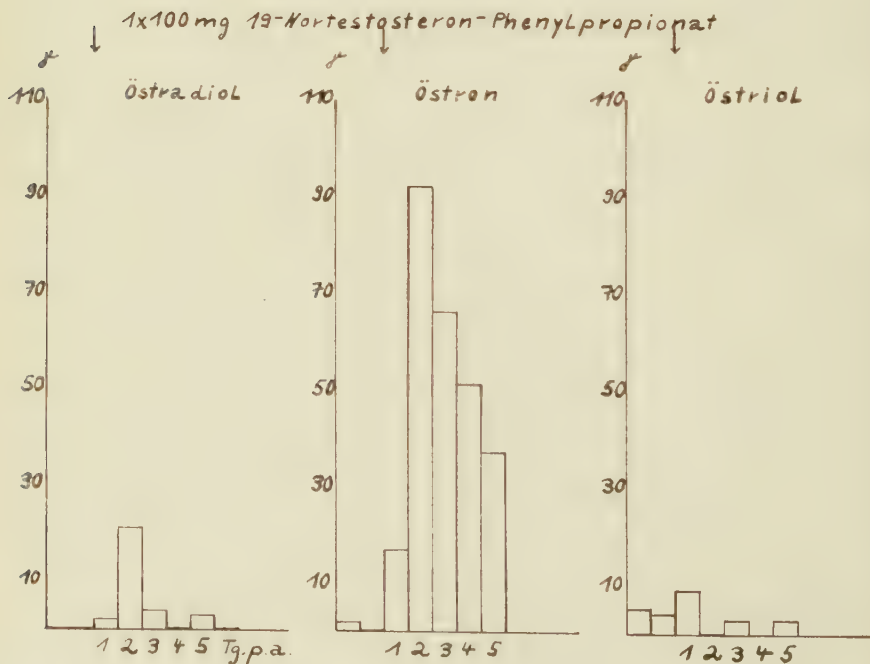


Abb. IX, Frau D., 66 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i.m.

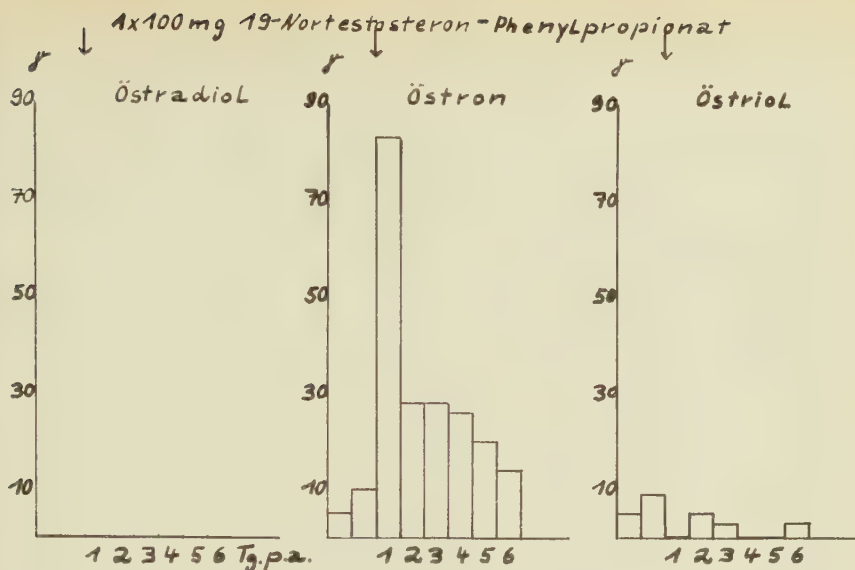


Abb. I, Frau Schm., 82 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i.m.

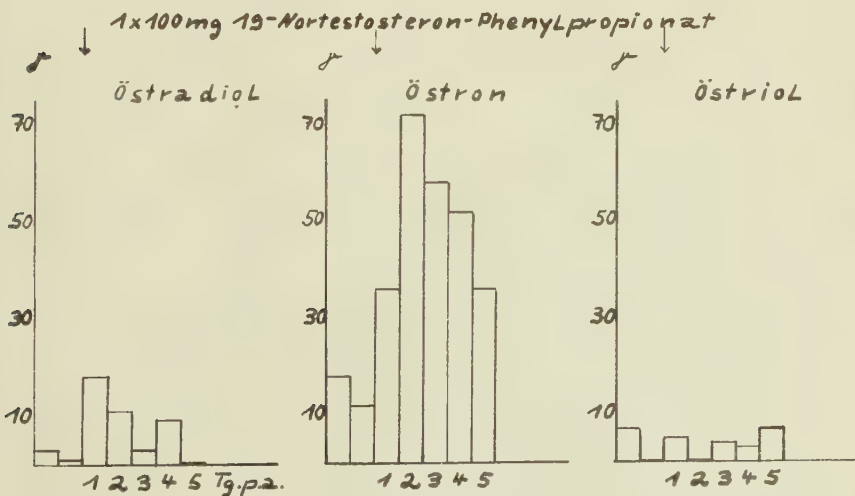


Abb. II, Frau H., 64 J.:

Die Ausscheidung von Östradiol, Östron und Östriol nach Verabreichung von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat i.m.

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die vorliegenden Untersuchungen ergeben für alle drei geprüften 19-Nortestosteronverbindungen einen Anstieg der Östrogenwerte im Harn, der für die sechs 19-Nortestosteron-Phenylpropionatfalle statistisch gesichert ist. (Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,1 \%$). Beim Östron sind $172 \mu \pm 20 \mu$ mehr vorhanden als vor der Applikation. Innerhalb der fünf Beobachtungstage bestehen bei einer Streuung des Mittelwertes innerhalb der einzelnen Tage von 8μ ebenfalls gesicherte Unterschiede ($p < 0,1 \%$), wobei das Maximum der Ausscheidung im Mittel am zweiten Tag, das Minimum am fünften Tag liegt. Die Differenz beträgt $39 \mu \pm 12 \mu$. Besonders die Östronwerte sind am letzten Untersuchungstag jedoch noch relativ hoch. Das nicht vollständige Absinken deutet daraufhin, daß während der Beobachtungszeit noch kein vollständiger Abbau der Substanz stattgefunden hat.

Bei den drei Frauen, die je 2×50 mg Äthinyl-Nortestosteron an zwei aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht bekamen, ist in einem Falle keine Veränderung der Werte nach der Applikation der Substanz vorhanden. Bei den beiden anderen Patientinnen zeigt sich vor allem eine Zunahme der Östradiolfraction, deren Werte einmal auf das ca. 8fache, im anderen Falle auf das ca. 22fache ansteigen; Östron ist weniger vermehrt, während sich Östriol kaum verändert, bzw. einmal sogar vermindert.

Nach 2×50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat in oraler Form an zwei aufeinanderfolgenden Tagen tritt Östradiol in beiden Fällen vermehrt auf, Östron nur einmal. Beim Östriol sind einmal besonders hohe Werte von 105μ und 99μ auffällig.

Da die Östrogenwerte innerhalb von vier Tagen bereits auf das Ausgangsniveau zurücksinken, ist anzunehmen, daß die beiden oralen Nortestosteronpräparate schnell abgebaut werden.

Zusammenfassend ergibt sich, daß sich beim Äthinyl-Nortestosteron und beim Äthinyl-Nortestosteron-Acetat die einzelnen Östrogenfraktionen zwar uneinheitlich verhalten, was vielleicht durch die geringe Fallzahl zu erklären ist, im ganzen aber doch eine deutliche Zunahme erkennen lassen.

Als Ursache der Östrogenzunahme fällt bei den Frauen in der Menopause, um die es sich bei den vorliegenden Untersuchungen weitgehend handelt, eine vermehrte Östrogenbildung in den Ovarien weg. Einer Östrogenproduktion in der Nebenniere kommt ebenfalls kaum eine Bedeutung zu, da die Sekretion von bisher untersuchten Nebennierenrindensteroiden durch die Nortestosteronverbindungen nicht gefördert wird. Die Möglichkeit einer Verunreinigung der Substanzen mit Östrogenen bei der Darstellung besteht zwar, papier-chromatographische Prüfungen haben aber keine Anhaltspunkte für die Anwesenheit phenolischer Substanzen gegeben (4).

Die Zunahme an Östrogenen im Harn nach Gabe von Nortestosteronverbindungen ist mit weitgehender Sicherheit auf eine Umwandlung von Nortestosteron in Östrogene zurückzuführen.

KUSHINSKY (31) hat in vitro die Umwandlung von 19-Nortestosteron und 19-Nortestosteron-Acetat in Östrogene bereits beweisen können. Durch Ozonisation des Nortestosteron-Acetates und anschließender Inkubation mit *Corynebacterium simplex* entsteht eine starke Aromatisierung. Nach der Inkubation von freiem 19-Nortestosteron mit *Corynebacterium simplex* tritt ein Gemisch von Östron, Östradiol und eine Spur von 19-Nor- Δ^4 -Androsten-3,17-dion auf.

Mit der Östrogenentstehung im Organismus sind die Östrogenwirkungen an den genitalen Erfolgsorganen nach Gaben von Äthinyl-Nortestosteron zu erklären (10, 33). Sie lassen sich im Tierversuch selbst bei sorgfältigster Reinigung der Nortestosteronverbindungen nachweisen (10). Deshalb müssen auch in der gynäkologischen Hormontherapie wahrscheinlich die Nortestosteronpräparate nicht in dem Umfang mit Östrogenen kombiniert werden wie Progesteron.

Interessanterweise ist die Umwandlung von Testosteron, oder allgemein von Androgenen in Östrogene, bereits erwiesen (52). Androgene gelten in der Biosynthese als Proöstrogene (46).

Nach BUTENANDT und KUDZUS (1935) wirken Androgene an infantilen, weiblichen Ratten schwach östrogen. BUTENANDT hat deshalb damals schon vermutet, daß ein Umbau von Androgenen in Östrogene möglich ist (7).

Wenn Androgene in Östrogene umgewandelt werden können, so ist diese Möglichkeit für die Nortestosteronverbindungen noch eher gegeben. Durch das Fehlen der CH_3 -Gruppe an C_{10} wird nämlich der Umbauvorgang sehr erleichtert, da der Demethylierungsprozeß wegfällt. Die Östrogenzunahme im Harn liegt vermutlich bei beiden Stoffklassen in einem ähnlichen Bereich.

Hat die Zunahme an Östrogenen nach Androgenen und 19-Nortestosteron eine Konsequenz für die Carcinom-Therapie? MYERS und Mitarbeiter (37) beobachteten bei vier Patientinnen mit Mammacarcinom und Knochenmetastasen während der Behandlung mit Androgenen eine Exacerbation und machen dafür die entstehenden Östrogene verantwortlich. Tierexperimentell ist für die Östrogene beim Mammacarcinom eine bedingt cancerogene Wirkung festgestellt worden (7, 27, 28). Beim Corpuscarcinom zeigen demgegenüber alle Androgene und ebenfalls die Norsteroidoide eine mitosehemmende Wirkung. Die Kombination mit Östrogenen führt dabei zu keiner Stimulierung des Tumorstwachstums (24, 25).

Wegen ihrer positiven Wirkung auf die Eiweiß- und Calciumbilanz sind Testosteron und Nortestosteron bei der Therapie des Mammacarcinoms trotz der Östrogenentstehung von Bedeutung. So hat sich z. B. 19-Nortestosteron-Phenylpropionat besonders beim Vorliegen von Skelettmetastasen klinisch gut bewährt und führt außerdem kaum zu Virilisierungserscheinungen (15).

Durch die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit werden die bisher in der Literatur beschriebenen Östrogenzunahmen nach Gabe von 19-Norsteroiden bestätigt, bzw. vor allem für das 19-Nortestosteron-Phenylpropionat erweitert.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Im allgemeinen Teil dieser Arbeit wurde ein Überblick über Wirkung und Stoffwechsel der Östrogene sowie der natürlichen und synthetischen Gestagene gegeben.

Nach kurzer Beschreibung der wichtigsten chemischen Bestimmungsverfahren folgten ausführliche Angaben über das Verfahren von J. B. BROWN. Mit Hilfe des BROWN'schen Verfahrens wurden in der vorliegenden Arbeit die drei Östrogenfraktionen nach Gaben von 19-Nortestosteronverbindungen im Harn bestimmt. Durch dieses Verfahren war eine exakte, getrennte Bestimmung von Östradiol, Östron und Östriol möglich. Im speziellen Teil wurde zunächst über Literaturangaben im Zusammenhang mit dem Thema berichtet. Bei den eigenen Untersuchungen wurden drei verschiedene Gestagenpräparate der Nortestosteronreihe bei insgesamt elf Frauen in der Menopause untersucht.

Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen ließ erkennen, daß nach parenteraler und oraler Gabe von 19-Nortestosteronderivaten im Harn vermehrt Östrogene ausgeschieden werden. Dieses Ansteigen der Östrogene wurde mit einer teilweise bereits bewiesenen Umwandlung von 19-Nortestosteron in Östrogene erklärt. Die Zunahme der Östrogene zeigte sich vor allem beim 19-Nortestosteron-Phenylpropionat, wobei hauptsächlich die Östronfraktion vermehrt auftrat. Hier waren die Werte am Ende der Untersuchungen nach fünf Tagen noch deutlich erhöht, so daß eine Verweildauer der Substanz von über einer Woche anzunehmen ist.

Die Gesamtöstrogenwerte lagen nach Injektion von 100 mg 19-Nortestosteron-Phenylpropionat innerhalb von fünf Tagen um ca. 180 μ über den Ausgangswerten.

Die Zunahme bei den Präparaten Äthinyl-Nortestosteron und Äthinyl-Nortestosteron-Acetat war, wohl wegen der geringen Fallzahl, nicht signifikant. Die einzelnen Östrogenfraktionen verhielten sich auch uneinheitlich.

Die östrogene Begleitwirkung der Norsteroiden bedeutet für die gynäkologische Hormontherapie einen Vorteil. Durch die günstige Wirkung dieser Substanzen auf den Eiweiß- und Mineralhaushalt sind die Nortestosteronverbindungen beim Mammacarcinom auch weiterhin indiziert, obwohl hier die Entstehung von Östrogenen im Organismus als Nachteil gewertet werden muß.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Ammon, R. und W. Discherl:
"Fermente, Hormone, Vitamine" S. 440 ff
Georg Thieme/Leipzig, (1948)
2. Bachmann und Pettit: J. Biologic. Chem. 138, 689 (1941)
3. Bayer, J. M., W. Nocke, H. Breuer:
Die Östrogenausscheidung im Urin beim Mammacarcinom
unter Androgenbehandlung
Klin. Wschr. 35, 682 (1957)
4. Breuer, H., U. Dardenne und W. Nocke:
Ausscheidung von 17-Ketosteroiden, 17-ketogenen
Steroiden und Östrogenen beim Menschen nach Gaben
von 17 α -Äthynyl-19-Nor-Testosteron-Estern
Acta Endocrinologica 33, 10 (1960)
5. Breitner, J., A. Eichstädter:
Zur Methodik der quantitativ-chemischen Östrogen-
bestimmung im Harn
Ärztl. Forschung 8, 457 (1954)
6. Brown, J. B.:
A chemical method for the determination of oestriol,
oestrone and oestradiol in human urine
The Biochemical Journal 60, 185 (1955)
7. Butenandt, A. und H. Kudzus:
Über Androstendion, einem hochwirksamen männlichen
Prägnanzstoff. Ein Beitrag zur Genese der Keimdrüsen-
hormone
Hoppe-Seyler's Zeitschrift 237, 75 (1935)
8. Butenandt, A., U. Westphal und H. Cöbber:
Über einen Abbau des Stigmasterins zu corpus-luteum-
Hormons wirksamen Stoffen;
ein Beitrag zur Konstitution des Corpusluteum-Hormons.
Berichte der dtsh. chem. Gesellschaft 67/1, 1611 u.
2085 (1934)
9. Clayton, G. W., and A. M. Bongiovanni:
Plasma 17-ketosteroids: an improved method for their
extraction and determination.
J. Clinic. Endocrin. and Metabolism 14, 815 (1954)

10. Desaulles, P.: Der heutige Stand der Behandlung mit Gestagenen
Geburtsh. u. Frauenheilk. 20, 289 (1960)
11. Desaulles, P.: Die Entwicklung auf dem Gebiet der gestagenen Steroi-
de (Symposium "Gestagene")
Geburtsh. u. Frauenheilk. 18, 667 (1958)
12. Dorfman R. J., and J. B. Hamilton:
The urinary excretion of estrogenic substances after the
administration of testosterone propionate
Endocrinology 25, 33 (1939)
13. Fernholz, E.: Über die Konstitution des Stigmasterins
Liebig's Ann. Chem. 507, 128 (1933)
14. Friedgood, H. B., J. B. Garst and A. J. Haagen-Smit:
A new method for the separation of androgens from
estrogens and for the partition of estriol from the
estrone-estradiol fraction
J. Biologic. Chem. 174, 523 (1948)
15. Gerbrandy, J., und H. B. A. Hellendoorn:
Die Kalziurie bei der hormonalen Behandlung des
metastasierten Mammakarzinoms
Ned. T. Geneesk. 101, 1257 (1957)
16. Greenblatt, R. B.: The progestational activity of 17 α -ethinyl-19-
nortestosterone
J. Clinic. Endocrin. and Metabolism 16, 869 (1956)
17. Greenblatt, R. B. and E. C. Jungck:
Delay of menstruation with norethindrone, an orally
given progestational compound
J. Amer. Med. Assoc. 166, 1461 (1958)
18. Grumbach, M. M., J. R. Ducharme and R. E. Moloshok:
On the fetal masculinizing action of certain oral
progestins
J. Clinic. Endocrin. and Metabolism 19, 1369 (1959)
19. Herrmann, U., E. Bergemann und M. Arnold:
Zur Anwendung von Aethinyl-Nor-Testosteron-Azetat
Gynaecologia 148, 334 (1959)

20. Heusghem, C. et W. Verly:
Utilisation de la méthode isotopique dans l'étude du
métabolisme des androgènes et des oestrogènes
Rapports 3. Réunion. Endocrinol. Langue franc. 139 (1955)
21. Jailer, J. W.:
A fluorometric method for the determination of estro-
gens.
Endocrinology 41, 198 (1947)
22. Kaiser, R.:
Über die progestative Wirkung von 19-Nortestosteron-
verbindungen bei oraler Verabreichung
Geburtsh. u. Frauenheilk. 17, 24 (1957)
23. Kaiser, R.:
Ergebnisse der klinischen Auswertung von Pregnandiol-
bestimmungen im Zyklus u. ihre Bedeutung für die
Hormontherapie
Geburtsh. und Frauenheilk. 12, 1006 (1952)
24. Kaiser, R.:
Disk.-Bem. 6. Symposium d. Dtsch. Ges. f. Endokrinol.
1959, Kiel. Ref. Geburtsh. u. Frauenheilk. 19, 723
(1959)
25. Kaiser, R.:
Die Wirkung von Gestagenen beim Korpuscarcinom
Archiv für Gynäkologie 193, 195 (1959)
26. Kaiser, R.:
Disk.-Bem. 2. Österr.-Bayer.-Gyn.-Tagg. 1959,
Lindau. Ref. Geburtsh. u. Frauenheilk.
20, 288 (1960)
27. Kaufmann, C., H. A. Müller, A. Butenandt, H. Friedrich-Freska:
Experimentelle Beiträge zur Bedeutung des Follikel-
hormons für die Carcinombehandlung
Zeitschrift f. Krebsforschung 56, 482 (1948/49)
28. Kaufmann C. u. H. A. Müller:
Bemerkung zu der Arbeit von A. Butenandt:
"Zur physiolog. Bedeutung des Follikelhormons und der
östrogenen Wirkstoffe für die Genese des Brustdrüsen-
krebses u. die Therapie des Prostata-Karzinoms"
Dtsch. Med. Wschr. 75, 1409 (1950)
29. Keller, M.:
Die Extraktion und Bestimmung von Phenolsteroiden im
Urin
Gynaecologia 136, 358 (1953)
30. Kober, S.:
Eine colorimetrische Bestimmung des Brunsthormons
(Menformon)
Biochem. Z. 239, 209 (1931)

31. Kushinsky, St.: Synthesis of 19-nortestosterone acetate-4-C¹⁴ and
17 β -estradiol-4-C¹⁴
J. Biologic. Chem. 230, 31 (1958)

32. Levitz, M., G. P. Condon and J. Dancis:
The interconversion of estrone and estradiol in the
perfused human placenta
Endocrinology 58, 376 (1956)

33. Maekawa, K.: Counteraction between estrogenic and progestational
properties of 17 α - Δ thieryl-19-nortestosterone
Endocr. jap. 6, 661 (1959)

34. Mey, R. und H. Scheid:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage einer
androgenen Wirkung von Δ thieryl-nortestosteron
Geburtsh. u. Frauenheilk. 19, 783 (1959)

35. Mueller, G. C. and Rumney:
Formation of 6 β -hydroxy and 6-keto derivatives of
estradiol-16-C¹⁴ by mouse liver microsomes
J. Amer. Chem. Soc. 79, 1004 (1957)

36. Mühlbock, O., H. Knaus, E. Tscherne:
Die weiblichen Sexualhormone in der Pharmakothera-
pie. (In: Handbuch der Therapie, herausgegeben von
Prof. T. Gordonoff, Bern)

37. Myers, W. P. L., CH. D. West, O. H. Pearson and D. A. Karnofsky:
Androgen-induced exacerbation of breast cancer
measured by calcium excretion. Conversion of
androgen to estrogen as a possible underlying
mechanism
J. Amer. Med. Assoc. 161, 127 (1956)

38. Nevinny-Stickel, J.: Die Behandlung funktioneller Uterusblutungen mit
 Δ thieryl-nor-testosteron-Acetat.
Ärztli. Wschr. 14, 807 (1959)

39. Nowakowski, H. und J. Parada:
Klinische Erfahrungen mit 19-Nortestosteronphenyl-
propionat
Dtsch. Med. Wschr. 83, 1421 (1958)

40. Overbeek, G. A. and J. de Visser:
A new substance with progestational activity
Acta Endocrinologica 22, 318 (1956)

41. Overbeek, G. A. and J. de Visser:
 Nor-androstenolonephenylpropionate, a new potent
 anabolic ester
 Acta Endocrinologica 24, 209 (1957)
42. Pots, P.:
 Die perorale Wirksamkeit synthetischer Gestagene.
 Zentralbl. f. Gynäkologie 79, 529 (1957)
43. Pots, P.:
 Testierung der peroralen Gestagenwirkung von Äthinyl-
 Nor-Testosteronacetat
 Klin. Wschr. 36, 824 (1958)
44. Puck, A. und K. A. Hübner:
 Die Wirkungen des Östriols auf Uterus und Vagina des
 Kaninchens und Meerschweinchens und auf die Symphyse
 des Meerschweinchens.
 Acta Endocrinologica 22, 191 (1956)
45. Ryan, K. J. and L. L. Engel:
 The interconversion of estrone and estradiol by human
 tissue slices
 Endocrinology 52, 287 (1953)
46. Simmer, H.:
 Androgene als Proöstrogene im weiblichen Organismus.
 Dtsch. Med. Wschr. 83, 349 (1958)
47. Staemmler, H. J. und Chr. Lauritzen:
 Pharmakologie und klinische Anwendung des Äthinyl-
 Nor-Testosteron
 Zentralbl. f. Gynäkologie 80, 754 (1958)
48. Taylor, H. C.:
 Fortschritte in der gynäkologischen Endokrinologie
 Geburtsh. u. Frauenheilk. 9, 709 (1949)
49. Werff, J. Th., van der:
 Sex hormones and mammary cancer.
 Experience with Durabolin
 Brit. Med. J. 5101, 881 (1958)
50. Werff, J. Th., van der:
 Results of treatment of mammary cancer in the
 general practice of surgeons and radiologists
 J. Belge de Radiologie 39, 920 (1956)

51. West, C. D., B. L. Damast, S. D. Sarro, O. H. Pearson:
Conversion of testosterone to estrogens in castrated,
adrenalectomized human females
J. Biologic. Chem. 218, 409 (1956)
52. Zander, J.:
Die gestagen wirksamen Hormone im Organismus
Geburtsh. u. Frauenheilk. 17, 876 (1957)
53. Zander, J., T. R. Forbes, R. Neher und P. Desaulles:
Über biologisch aktive Progesteronmetaboliten im
menschlichen Organismus
Klin. Wschr. 35, 143 (1957)
54. Zander, J. und A.-M. von Münstermann:
Weitere Untersuchungen über Progesteron in mensch-
lichem Blut und Geweben
Klin. Wschr. 32, 894 (1954)
55. Zander, J.:
Das Verhalten des Schwangerschaftshormons Progesteron
in der menschlichen Plazenta
(In: Probleme der fetalen Endokrinologie)
Springer-Verlag, Berlin, (1956)
56. Zander, J., T. R. Forbes, A.-M. von Münstermann and R. Neher:
 Δ^4 -ketopregnene 20 α -ol and Δ^4 -3-ketopregnene
-20 β -ol, two naturally occurring metabolites of
progesterone. Isolation, identification, biologic
activity and concentration in human tissues
J. Clinic. Endocrin. and Metabolism 18, 337 (1958)
57. Zondek, B.:
Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorder-
lappens
Verlag von Julius Springer, Wien, (1935)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. med. W. BICKENBACH als Direktor der I. Frauenklinik München meinen Dank dafür aussprechen, daß ich an der von ihm geleiteten Klinik die Untersuchungen für meine Arbeit durchführen durfte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. R. KAISER für die Überlassung der Arbeit, sowie für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung derselben.

Auch Fräulein U. ROGOWSKI, der chemotechnischen Assistentin der I. Frauenklinik, möchte ich für ihre stets liebenswürdige Betreuung im Labor recht herzlich danken.

L E B E N S L A U F

Am 8. Februar 1936 wurde ich, Sigrid Heldenmaier, als Tochter des Kaufmannes Alfred Heldenmaier und seiner Ehefrau Selma geb. Grieme in Bremen geboren.

Meine Reifeprüfung legte ich 1955 an der Kippenbergschule in Bremen ab.

Die ersten beiden Semester meines Medizinstudiums belegte ich an der Universität in Tübingen, danach ein Semester an der Universität in Wien; Fortsetzung des Studiums erfolgte an der Universität in Freiburg i. Br., wo ich 1958 meine ärztliche Vorprüfung ablegte. Im Wintersemester 1958/1959 war ich an der Universität in Innsbruck eingeschrieben. Im Anschluß daran belegte ich vier Semester an der Ludwig-Maximilians-Universität München, wo ich am 7. Juni 1961 mein Staatsexamen beendete.

